

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-009020

(43)Date of publication of application : 16.01.2001

(51)Int.Cl.

A61L 15/16

A61K 7/00

A61K 7/48

C12M 3/00

(21)Application number : 2000-148523

(71)Applicant : COLETICA

(22)Date of filing : 19.05.2000

(72)Inventor : ALLARD ROLAND
ABDUL MALAK NABIL
HUC ALAIN

(30)Priority

Priority number : 99 9906326 Priority date : 19.05.1999 Priority country : FR

(54) SEA-ORIGIN COLLAGEN-CONTAINING COLLAGEN PRODUCT HAVING LOW ODOROUS PROPERTY AND IMPROVED MECHANICAL CHARACTERISTICS AND ITS USE AS COSMETICS OR MEDICINAL COMPOSITION OR PRODUCT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain excellent mechanical characteristics by subjecting a collagen compound of a collagen product containing the sea-origin collagens obtainable from ocean animals to a deodorization treatment by using an active material allowing the simultaneous execution of a crosslinking treatment of collagens in a process of producing the collagen product.

SOLUTION: The collagen product containing the sea-origin collagens obtainable from the ocean animals, such as fishes, jellyfishes, mollusks and crustacean, consists of one or more collagens or their derivatives including their hydrolyzates and has a low-odorous property. At least part of the collagens or their derivatives are the sea-origin products and are produced by subjecting these to the deodorization treatment by using the active material, such as ozone, allowing the simultaneous execution of the crosslinking treatment of the collagens to improve the mechanical properties of the collagens. Such collagen product preferably consists of 1 to 100 wt.% collagens and their derivatives.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 19.05.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3327540

[Date of registration] 12.07.2002

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号
特開2001-9020
(P2001-9020A)

(43)公開日 平成13年1月16日(2001.1.16)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
A 6 1 L 15/16		A 6 1 L 15/01	
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	K
7/48		7/48	
C 1 2 M 3/00		C 1 2 M 3/00	A

審査請求 有 請求項の数43 O L (全 8 頁)

(21)出願番号 特願2000-148523(P2000-148523)

(22)出願日 平成12年5月19日(2000.5.19)

(31)優先権主張番号 99-06326

(32)優先日 平成11年5月19日(1999.5.19)

(33)優先権主張国 フランス (F R)

(71)出願人 500226948
コレティカ
COLETICA
フランス国 69007 リヨン 32 リュ
サン-ジャン-ド-ドゥウ

(72)発明者 アラル・ローラン
フランス国 69230 セント ジェニーラ
ヴァル 5, アヴェニュー ド ギャダー
ニュ

(74)代理人 100086586
弁理士 安富 康男 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 低臭性で機械的特性が改善された海原産コラーゲン含有コラーゲン製品、及び、化粧又は医薬の組成物又は製品としてのその使用

(57)【要約】

本発明は低臭性の海原産コラーゲン含有コラーゲン製品に関する。海洋動物から得られる海原産コラーゲン化合物を含有するように少なくとも一部が作成されるコラーゲン製品であって、前記コラーゲン化合物は前記コラーゲン製品を製造する何れかの段階において、コラーゲンの機械的特性を改善するものであるコラーゲンの架橋処理を同時に行うことができる活性物質を使用して脱臭処理が施されたものであるコラーゲン製品。機械的特性を改善し、この低臭性コラーゲン製品を化粧又は医薬製品に使用することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 海洋動物から得られる海原産コラーゲン化合物を含有するように少なくとも一部が作成されるコラーゲン製品であって、前記コラーゲン化合物は前記コラーゲン製品を製造する何れかの段階において、コラーゲンの機械的特性を改善するものであるコラーゲンの架橋処理を同時に行うことができる活性物質を使用して脱臭処理が施されたものであるコラーゲン製品。

【請求項2】 前記コラーゲン化合物が魚、クラゲ、軟体動物及び甲殻類からなる群より選ばれる海洋動物から得られるものである請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項3】 前記コラーゲン化合物がコラーゲン水解物である請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項4】 前記コラーゲン化合物が前記コラーゲン製品に主要な比率で存在する請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項5】 1から100%が前記コラーゲン化合物からなる請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項6】 10から100%が前記コラーゲン化合物からなる請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項7】 前記脱臭処理及び前記架橋処理が初めに前記コラーゲン化合物のみに施されるものである請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項8】 前記脱臭処理及び前記架橋処理が最終的な前記コラーゲン製品に施されるものである請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項9】 前記活性物質がオゾンからなる請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項10】 前記脱臭処理及び前記架橋処理が海洋動物のコラーゲン含有部分に施されるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項11】 前記海洋動物のコラーゲン含有部分が細かく分割した魚の皮膚である請求項10記載のコラーゲン製品。

【請求項12】 前記海洋動物のコラーゲン含有部分が粉砕した魚の皮膚である請求項11記載のコラーゲン製品。

【請求項13】 前記処理が少なくとも最初の抽出処置において前記海洋動物のコラーゲン含有部分から得られるコラーゲン溶液から沈殿したコラーゲン繊維に施すものである請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項14】 前記処理が少なくとも最初の抽出処置において魚の皮膚から得られるコラーゲン溶液から沈殿したコラーゲン繊維に施すものである請求項1記載のコラーゲン製品。

【請求項15】 前記処理がオゾンと接触させたコラーゲングル又はコラーゲン水解物溶液に施すものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項16】 前記処理が、オゾン含量が20から50mg/lの範囲であり、オゾン流速がゲル1kg当り

25から50l/時間の範囲でオゾンと接触させたコラーゲングル又はコラーゲン水解物溶液に施すものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項17】 物理的に架橋することにより前記コラーゲンが更に改善した機械的特性を有するものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項18】 熱脱水により架橋することにより前記コラーゲンが更に改善した機械的特性を有するものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項19】 前記熱脱水が60℃を超える温度で真空下に行われるものである請求項18記載のコラーゲン製品。

【請求項20】 前記熱脱水が約100℃から約130℃の範囲の温度で真空下に行われるものである請求項18記載のコラーゲン製品。

【請求項21】 前記熱脱水による架橋が約100Pa未満の圧力下に行われるものである請求項18記載のコラーゲン製品。

【請求項22】 前記熱脱水による架橋が約50Pa以下の圧力下に行われるものである請求項18記載のコラーゲン製品。

【請求項23】 前記架橋が、最初に非化学的架橋を行った後、化学的架橋を行うことにより更に強化されるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項24】 前記架橋が、最初に非化学的架橋を熱脱水により行った後、化学的架橋を行うことにより更に強化されるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項25】 前記化学的架橋がアジドを使用して行われるものである請求項23記載のコラーゲン製品。

【請求項26】 前記コラーゲン化合物が、特に魚を捕獲する場で直接新鮮な魚から切り取ることにより、産業上集められる魚の皮膚から得られるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項27】 前記コラーゲン化合物が、魚を捕獲する場で直接新鮮な魚から切り取ることにより産業上集められ、切り取った後直ちに冷凍される魚の皮膚から得られるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項28】 前記コラーゲン化合物が、切り身を取るために皮膚を剥がれたカレイ目魚類の皮膚から得られるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項29】 前記コラーゲン化合物が未着色の魚の皮膚から得られるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項30】 前記コラーゲン化合物がコラーゲンフィルム、コラーゲン膜、化粧用コラーゲンマスク及びコラーゲンスポンジからなる群より選ばれる形態で調製されるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項31】 前記コラーゲンスポンジが、止血用スポンジ、外傷治療用品、並びに、組織、再構成された皮

膚及び再構成された軟骨を作成するための細胞培養支持体からなる群より選ばれるものに応用されるものである請求項1又は9記載のコラーゲン製品。

【請求項32】 空気の流れの中で乾燥したコラーゲンフィルムの形態からなるか又は前記形態に調製される請求項30記載のコラーゲン製品。

【請求項33】 凍結乾燥により乾燥したコラーゲンフィルムの形態からなるか又は前記形態に調製される請求項30記載のコラーゲン製品。

【請求項34】 海産コラーゲン化合物からなるスポンジ、膜及びマスクから選ばれる形態によるコラーゲン製品であって、前記コラーゲン化合物は前記コラーゲン製品を製造する間に、コラーゲンの機械的特性を改善するものであるコラーゲンの架橋処理を同時に行うことができる活性物質を使用して脱臭処理を施されたものであるコラーゲン製品。

【請求項35】 前記コラーゲン化合物がコラーゲン水解物である請求項34記載のコラーゲン製品。

【請求項36】 前記コラーゲン化合物が魚の皮膚に由来するものである請求項34記載のコラーゲン製品。

【請求項37】 前記活性物質がオゾンからなり、前記処理が、オゾン含量が20から50mg/lの範囲であり、オゾン流速がゲル1kg当り25から50l/時間の範囲でオゾンと接触させたコラーゲンゲル又はコラーゲン水解物溶液に施すものである請求項34記載のコラーゲン製品。

【請求項38】 海原産コラーゲン化合物を含有するように少なくとも一部が作成されるコラーゲン製品を製造する方法であって、前記方法は、同時にコラーゲンを架橋することができる少なくとも1つの活性物質を使用して、前記海産コラーゲン化合物のみに又は最終的な前記コラーゲン製品に脱臭処理及び架橋処理を施すこととなる方法。

【請求項39】 前記活性物質がオゾンからなり、前記処理が、オゾン含量が20から50mg/lの範囲であり、オゾン流速がゲル1kg当り25から50l/時間の範囲でオゾンと接触させたコラーゲンゲル又はコラーゲン水解物溶液に施すものである請求項38記載の方法。

【請求項40】 請求項1又は9記載の低臭性で機械的特性が改善された海原産コラーゲン化合物含有コラーゲン製品から部分又は全体が製造される化粧製品。

【請求項41】 請求項1又は9記載の低臭性で機械的特性が改善された海原産コラーゲン化合物含有コラーゲン製品から部分又は全体が製造される医薬製品。

【請求項42】 前記コラーゲン化合物が、その機械的特性を更に改善するために更に非化学的架橋を行ったものである請求項41記載の医薬製品。

【請求項43】 スポンジ、膜及び化粧用マスクからなる群より選ばれる物品である、請求項1又は9に記載し

たコラーゲン製品の化粧製品。

【発明の詳細な説明】

【0001】本発明は、本質的に、低臭性で機械的特性が改善された海原産コラーゲン含有コラーゲン製品、化粧又は医薬の組成物又は製品の形態におけるその使用、及び、in vitro、例えば再構成された組織の環境における試験実施に関する。本発明は更に、この低臭性で機械的特性が改善された海原産コラーゲン含有コラーゲン製品の調製方法に関する。

【0002】WO93/01241として公開された先行特許出願において本出願人は、コラーゲンの新規工業的供給源としての魚、特にカレイ目魚類の未着色皮膚の使用、その抽出方法、上記コラーゲン、及び、上記方法により得られる生体材料を記載した。

【0003】本出願人の先行発明により得られるような未着色の海産コラーゲンは、産業上利用できる大量の皮膚、特にカレイ目魚類に由来する皮膚を用いることにより、許容できる費用で工業的にコラーゲンを得ることを可能にした。Journal of Food Science, Vol 48 (1983)のD. B. ジョセフソン (Josephson) らの論文により、100から500ppmの重亜硫酸塩含有水溶液で処理することにより魚を脱臭することがよく知られている。

【0004】しかし、本発明者は、魚由来の固体コラーゲンが発生する臭気自体が新たな技術的問題であるとする。この問題は、それを化粧組成物又は医薬組成物の構成成分の1つとして使用することに関して主に応用するものであり、上記組成物中に極めて大量に存在するその他の構成成分が希釈により上記臭気を隠すものである限り、上記先行特許出願WO93/01241の範囲内では生じなかった。

【0005】本発明者らはまた、コラーゲンの形態に関係なく魚、クラゲ、軟体動物及び甲殻類等の海洋動物から得られる海原産コラーゲンやその水解物を含有するコラーゲン製品が通常発生する臭気自体が新たな技術的問題であるとする。実際、コラーゲンは、その形態に関わりなく、天然であろうとなかろうと、アテロコラーゲン (atelocollagen)、不溶性コラーゲン、特にコラーゲン繊維、溶解性コラーゲン、特に酸溶解性コラーゲン、又は、それらの水解物の形態でも、煩わしい臭気を有することを認めている。

【0006】本発明者らはまた、コラーゲン又はその水解物の濃度が比較的高いコラーゲン製品のスポンジ（海綿状物）、膜又はマスクを形成する状況において特に、上記臭気の問題は厄介なものとなり、その使用は、特に化粧品又は医薬品の分野において、及び、特に局所適用の生体材料として、特にマスクとして、厳しく限定されることを認めている。

【0007】新規の技術的問題として、本発明者らはまた、海原産コラーゲン製品から調製される固体生体材料

の機械的特性が不充分であること自体が問題であるとする。従って、本発明の目的は、上記技術的問題の両方を個々に及び好ましくは同時に、及び、特に好ましくは上記コラーゲンに影響を与えるか又は上記コラーゲンを分解することなく、解決することであり、これにより特に上記コラーゲンの天然の特徴を保つことができる。

【0008】本発明によれば、これらの問題の両方の解決が予期されずに見出され、これにより優れた機械的特性を有するコラーゲン製品が、特に所望により本発明によって上記コラーゲンの天然の特徴を保つことができるという事実により、得られる。

【0009】このように、第一の特徴によれば、本発明は、魚、クラゲ、軟体動物及び甲殻類等の海洋動物から得られる海原産コラーゲンを含有するコラーゲン製品であって、上記製品は1又はそれ以上のコラーゲン又は水解物を含むそれらの誘導体からなる低臭性のものであり、上記コラーゲン又は上記誘導体の少なくとも一部は、海原産であり、且つ、コラーゲンの機械的特性を改善するものであるコラーゲンの架橋処理を同時に行うことができる活性物質を使用して脱臭処理が施されたものであるコラーゲン製品を新規製品として提供する。好ましくは、上記活性物質はオゾンからなる。

【0010】「コラーゲン製品」という表現は、本発明の範囲内において少なくとも1つのコラーゲン及び水解物を含むあらゆる誘導体生成物を含有するあらゆる製品を意味するものと理解される。「コラーゲン」は、天然であろうとなかろうと、あらゆる形態のコラーゲン、アテロコラーゲン (atelocollagen)、不溶性コラーゲン、特にコラーゲン繊維、溶解性コラーゲン、特に酸溶解性コラーゲン、及び、水解物を含むあらゆる誘導体生成物を意味するものと理解される。これらの水解物は、当業者に公知の方法により化学的に又は酵素的に得ることができる。更に、上記コラーゲン又はそれらの誘導体は、その形態に関わりなく、僅少な比率又は主要な比率であり得る。

【0011】このように、本発明による上記コラーゲン製品は、1から100重量%、好ましくは10から100重量%のコラーゲン及びそれらの誘導体からなってもよく、上記誘導体には上記コラーゲンの水解物を含む。本発明の範囲内においては、上記脱臭処理は、初めに単独で若しくは分離して上記コラーゲン、それらの誘導体若しくはそれらの水解物に、又は、最終的な上記コラーゲン製品に、施すことができる。

【0012】本発明の1つの実施形態においては特に、上記脱臭処理は海洋動物のコラーゲン含有部分、特に細かく分割した魚の皮膚、例えば粉碎した魚の皮膚に施すものであってもよい。本発明のもう1つの好適な実施形態においては、上記脱臭処理は少なくとも最初の抽出処理において魚の皮膚から得られるコラーゲン溶液から沈殿したコラーゲン繊維に施すものであってもよく、又

は、これらの2つの処理を組み合わせてもよい。

【0013】もう1つの好適な実施形態においては、上記脱臭処理は、特にオゾン含量が20から50mg/lの範囲でありオゾン流速がゲル1kg当り25から50l/時間の範囲で、オゾンと接触させてコラーゲングル又はコラーゲン水解物溶液に施すものであってもよい。このオゾンを使用する脱臭は、上記コラーゲングル又は上記コラーゲン水解物溶液に上記ガスを吹き込むことにより行ってもよい。

【0014】上記コラーゲンを架橋する活性物質は好ましくはオゾンからなるが、上記活性物質を使用する本発明の処理により、上記コラーゲン製品は機械的特性が改善されたものとなる。これは当業者に予想できないことであり、機械的強度が非常に低い固体スポンジ上の液体中又は水性媒体中で通常行う化学的架橋によって一般に上記コラーゲンスポンジはばらばらになることが発明者らにより観察されていることから、なおさらである。

【0015】更に、本発明の範囲内において、好ましくはオゾン処理からなる上記処理によるコラーゲンの最初の架橋の後、追加の架橋、好ましくは非化学的架橋、より好ましくは物理的架橋、更に好ましくはTDHと略記される熱脱水による架橋を行ってもよい。ここでは、60℃を超える温度、好適には約110℃から約130℃の範囲の温度、特に110℃のオーダーの温度で、真空下に熱脱水を行うことが好ましい。

【0016】上記追加の非化学的架橋、好ましくはTDHを行った後には更に化学的架橋を行うことにより上記架橋を強化することができ、これはその時点では上記コラーゲンの機械的強度は化学的架橋を行うことができるほど十分に高いからである。化学的架橋剤は当業者に公知のものであり、本出願人名による先行特許出願US-A-5, 264, 551に記載されたアジドを使用して架橋することを例示することができる。

【0017】使用する海産コラーゲンの供給源は、好ましくは魚の皮膚であり、ここではあらゆる魚の皮膚を使用することができる。しかし、魚の皮膚は魚を捕獲する場で直接新鮮な魚から切り取ることが一般的であり、切り取った後直ちに冷凍することが有利であるので、好適には、産業上集められる魚の皮膚を使用することが好ましい。

【0018】切り身を取るために皮膚を剥ぐ処置をするのは一般的にはカレイ目魚類であるので、カレイ目魚類の皮膚が魚の皮膚の実際的な供給源である。ある種の応用のためには、本出願人名による先行特許出願であるWO93/01241=US-A-5, 420, 248に記載された方法により未着色コラーゲンを得ることが有利な場合があり、これにより未着色の魚の皮膚を上記コラーゲンを調製するための供給源としてある種の応用に使用してもよい。

【0019】同様に、気体の流れ、特に空気の中でコラ

ーゲルを乾燥した後、物理的架橋処置、特に熱脱水による架橋処置を随意に施すことによりコラーゲンフィルムを調製することもでき、その後化学的架橋処置を施すこともできる。

【0020】第二の特徴によれば、本発明は、魚の皮膚から得られることが好ましい海産コラーゲンからなる例えばスポンジ、膜又はマスクの形態又は形状による製品であって、上記コラーゲンはその製造過程において、好適には上記のように又は本明細書から全体として得られるように、オゾンからなることが好ましい上記活性物質を使用して、脱臭処理がコラーゲンの架橋処理と同時に施されるものである製品をも含む。

【0021】有利な特徴によれば、上記スポンジ、膜又はマスクは、その機械的特性を改善するため、単独で又は後に続く化学的架橋と組み合わせて、上記の物理的架橋の少なくとも1つ、特にTDHによる架橋を行った海産コラーゲンからなる。

【0022】第三の特徴によれば、本発明は更に、海原産コラーゲン含有コラーゲン製品を製造する方法であって、上記方法は、コラーゲンを脱臭し且つ架橋する効果を有し、好ましくはオゾンからなる少なくとも1つの活性物質を使用して、上記海産コラーゲンのみに又は最終的な上記コラーゲン製品に脱臭処理及び架橋処理を施すことからなる方法に関する。

【0023】本発明の範囲内において、上記コラーゲン製品は、未処理のコラーゲン又は海以外の供給源からのコラーゲンと随意に混合して、上記脱臭処理及び架橋処理を施したコラーゲンを含んでもよい。更に、海洋動物の中で、現在では魚、特に魚の皮膚が、海原産コラーゲンの好ましい供給源である。

【0024】第四の特徴によれば、本発明は更に、低臭性で機械的特性が改善された海産コラーゲン製品から部分又は全体が製造されるものである化粧製品又は医薬製品、特に生体材料に関し、特に、上記又は下記のコラーゲン製品のスポンジ、膜又はマスクに関する。

【0025】化粧製品に関する限り、本発明はコラーゲンを主材料とする化粧用マスクに関して特に有利である。実際、そのコラーゲンに汚染の危険性がある限り、そしてまた環境上の理由のために、哺乳動物由来のコラーゲンは避けられることを当業者らは熟知している。更に、イメージ上の理由から大多数の化粧品会社は哺乳動物起源の成分を一層少なく使用しつつある。その一方、海産コラーゲンは、強力で不愉快な臭気があり且つその機械的強度が低いので、用途を見出すことはこれまでできなかった。

【0026】従って、本発明により、本発明者らが初めて課題としたこれら2つの問題を充分に解決することができる。本発明の場合においては、上記コラーゲンが非常によい機械的特性を有することが望まれるか又は必要である限り、上記コラーゲンの完全に天然の特徴は非常

に重要である。天然の特徴を有するコラーゲンとは、そのヘリックス構造のみならず、そのコラーゲンの橋かけ結合の大きい割合又は大部分の割合を担うものであるそのテロペプチド(telopeptides)をも維持するコラーゲンを意味するものと理解される。

【0027】本発明の範囲内において、当業者には容易に理解されるように、上記コラーゲンの予想される応用次第で、少なくとも1つ又はそれ以上の化粧上又は医薬上の活性成分が上記コラーゲンに混合され又は添加されていてもよい。

【0028】本発明により、化粧製品又は医薬製品、特に生体材料及び特にマスクに、海産コラーゲンを使用することがようやく可能となり、それは2、3mmの厚さという極薄のコラーゲンスポンジからなり、皮膚、及び、より好ましくは顔に適用するためのものである。

【0029】これらのマスクの目的は皮膚を滑らかにし及び白くすることである。それらは、実質的な幸福感をも与える。それらは、活性成分の担体として役立つすることもでき、この活性成分は後に皮膚表面上に徐々に放出される。この場合には、上記活性成分は、製造中に上記スポンジの全容量に導入するか、又は、マスクが皮膚に接触するときには上記マスクの表面に塗布することができる。

【0030】医薬品分野においては、コラーゲンは、止血用スポンジ、外傷治療用品、並びに、組織、特に再構成された皮膚及び軟骨を作成するための細胞培養支持体という多数の応用においてスポンジの形態で使うことができる。これらの応用のためには哺乳動物由来ではないコラーゲンを使用することが強く望まれるが、本発明はこの要求を満たすことができる。

【0031】魚の皮膚としては未加工の材料が好ましいことは留意されるべきである。それは実際に幾つかの利点がある。即ち、第一に、特に切り身として消費される魚の場合には、大量に入手できることであり、このため、比較的安価にすることができる。第二に、非常に清潔な条件下で産業的に採取される。最後に、切り取った後素早く冷凍され、これにより上記コラーゲンはその天然の特徴を確実に保つ。上記天然の特徴は本発明の方法によっても維持される。

【0032】本発明の処理工程の他の有利な特徴は、上記コラーゲン製品自体に関する上の記述から、及び、単に説明のためのものであるが比較例1を除いて本発明の不可欠の部分をなすものである以下の実施例から、当業者には実に明らかである。本発明の実施例においては、どの先行技術と比較しても新規であると思われる特徴は何れも広義に本発明の必須部分をなす。また、他に示さなければ、全ての百分率は重量、温度は摂氏、及び、圧力は気圧で表す。

【0033】比較例1

ピロ亜硫酸塩を使用する低臭性海産コラーゲンの調製

1-細かく分割した魚の皮膚の調製

完全なシタビラメの皮膚、即ち、着色した又は未着色の皮膚を含有するものを、まだ凍っている間に粉碎した。粉碎を続けて、小片が5mmのオーダーの大きさとなるまで細かく分割された皮膚が得られた。得られた上記粉碎材料を次の組成、即ち、 21.7 g/l の Na_2HPO_4 ($12\text{H}_2\text{O}$) 及び 0.78 g/l の KH_2PO_4 の滅菌軟水溶液、 $\text{pH}7.6-7.8$ のオーダーであるリン酸緩衝液で2回洗浄した。粉碎材料の緩衝液に対する比率は $1\text{ kg}/4\text{ l}$ とし、最終容量は 5 l とした。上記2回の洗浄はそれぞれ 8°C で1時間行い、上記粉碎材料は洗浄終了の度に遠心分離で回収した。上記粉碎材料はその後、回数、比率及び回収を上記洗浄と同様にして 8°C の滅菌軟水で2回続けてすすいだ。このように洗浄した粉碎材料に直接、下記の脱臭処理を行うことができた。

【0034】2-脱臭処理

上記工程1により得られた洗浄粉碎材料を脱臭物質槽に分散した。脱臭物質は、この場合は最終濃度5重量%のピロ亜硫酸ナトリウムの滅菌軟水溶液とした。使用する量は、槽4 lに対して洗浄粉碎材料1 kgのオーダーとし、最終容量は 5 l とした。上記分散は 8°C で2時間かけて調製し、その後 8°C に保ったまま72時間放置した。

【0035】3-処理した粉碎材料のすすぎ

上記脱臭処理の後、上記粉碎材料を遠心分離により回収した後、滅菌軟水ですすいだ。重量/容積の比率は $1\text{ kg}/10\text{ l}$ とした。上記操作を 8°C のまま3回繰り返した。各すすぎは1時間行った。

【0036】4-上記低臭性海産コラーゲンの抽出

上記工程3で得られたすすいだ粉碎材料を、セルロースチューブ中にて、 0.1 M 酢酸浴に対して 8°C で7日間透析した。上記透析浴は5日間続けて24時間毎に新たなものにした。最後の酢酸浴の濃度は 0.25 M にまで上げ、上記透析は48時間行った。上記粉碎材料は続いて超音波で均質にし、次いで 8°C で15分間4000 rpmで遠心分離し、不純物を除いた。上清を 8°C のまま滅菌軟水に対して72時間透析した。この抽出操作により上記粉碎材料から得られた上記コラーゲンゲルの濃度は、コラーゲンが $1.3-1.5$ 重量%のオーダーであった。

【0037】上記方法で得られた上記コラーゲンゲルは天然の状態にあり、即ち、そのテロペプチド及びその三重螺旋構造を有する。このコラーゲンゲルは、実施例6から8に示すようにその後スポンジ、フィルム若しくはマスク、又は、化粧若しくは医薬に应用するための他のあらゆる形態の固体生体材料を調製するために処理することができる。ここで、ピロ亜硫酸塩処理によっては天然コラーゲンの機械的特性は変化せず、これでは化粧品及び薬物類に求められる生物学的適用には未だ不十分で

あることが特筆される。

【0038】実施例2

オゾンを使用する低臭性海産コラーゲンの調製

1-細かく分割した魚の皮膚の調製

実施例1と同じ方法により、シタビラメの皮膚を調製し、粉碎材料が得られた。

【0039】2-コラーゲンゲルの調製

上記により得られた粉碎材料を 0.25 M 酢酸溶液浴に溶液4 l当たり1 kgの割合で24時間置き、最終容量を 5 l とした。得られた混合物をその後ULTRATURAX装置を使用して超音波により均質にした。上記均質材料を 8°C で15分間400 rpmで遠心分離し、不純物を除いた。上清のみをとっておいた。この操作で得られた上記コラーゲンゲルの濃度は、コラーゲンが 1.3 から 1.5 重量%のオーダーであった。

【0040】3-オゾンを使用する脱臭処理

工程2に記述した方法により調製されたコラーゲンゲルを、オゾン流を使用して脱臭した。これは、内部にオゾン流が循環する閉系反応器に上記ゲルを入れて行い、上記オゾンはこの目的のために設置する下部注入口を経て上記反応器の底から供給され、上記ゲルを底から上部へと通り抜けて、この目的のために設置する上部排出口を経て上記反応器上部から出る。上記ゲルをたたき切って攪拌し得る貫通攪拌機が市販されている。上記オゾンは、一定に攪拌され続けながら上記コラーゲンゲルを通り抜けるようである。

【0041】上記オゾン処理の時間は、1時間から10時間の間で変更することができる。処理したゲル1 kgの重量に対して、上記オゾンの流速は25から50 l/時間の間であり、上記オゾンの濃度は20から50 mg/lの間、好ましくは35 mg/lである。上記気体はラボ76モデル「トレイリギャツ」(model Labo 76 "TRAILIGAZ")装置によって製造される。このようにオゾンで処理されたゲルは、予期しないように機械的特性が改善されており、実施例6から8に示すように、フィルム、コラーゲンスポンジ、マスク、又は、化粧若しくは医薬に应用するための他のあらゆる形態の固体生体材料を製造するために使用することができる。

【0042】実施例3

オゾンを使用する低臭性海産アテロコラーゲンの調製

1-細かく分割した魚の皮膚の調製

実施例1及び2と同じ方法により、シタビラメの皮膚を調製し、粉碎材料が得られた。

【0043】2-ヘリックス構造を維持した脱架橋海産コラーゲンの抽出及び調製

得られた粉碎材料を、当業者に公知の技術によりペプシン又は水酸化ナトリウム溶液の何れかで処理し、しばしばアテロコラーゲンと称される部分的に脱架橋したコラーゲンが得られた。上記粉碎材料の洗浄後、上記コラーゲンゲルが実施例2と同じ方法により得られた。

【0044】3-オゾンを使用する脱臭処理

これは実施例2と同じ技術により実施された。このように処理したゲルは、驚くべきことに機械的特性がはっきりと改善され、フィルム、コラーゲンスポンジ、又は、化粧若しくは医薬に応用するための他のあらゆる形態の固体生体材料を得るために使用することができる。

【0045】実施例4

オゾンを使用する低臭性酸溶解性海産コラーゲンの調製
当業者に公知の技術により調製された酸溶解性海産コラーゲンの溶液は、実施例2に記載した方法によりオゾン流を使用して脱臭することができた。

【0046】実施例5

オゾンを使用する低臭性海産コラーゲン水解物の調製
当業者に公知の方法で酵素的又は化学的技術を使用して魚の皮膚を加水分解することにより得られた海産コラーゲン水解物の溶液は、実施例2に記載した方法によりオゾン流で脱臭することができた。

【0047】実施例6

比較の及び本発明のコラーゲンスポンジの調製

比較例1及び実施例2又は3により得られたコラーゲンゲルを所望の厚さになるようにトレーに入れ、その後冷凍及び凍結乾燥することにより、コラーゲンスポンジを得ることができた。これらのスポンジの機械的強度は、非化学的架橋、好適には物理的架橋及び好ましくは熱脱水により、改善することができる。本実施例において熱脱水の本質は、上記コラーゲンスポンジを約100Pa未満、特に約50Pa（約500 μ バール）の減圧下に約106 $^{\circ}$ Cの温度で7時間加熱することにある。このコラーゲンスポンジは、0.2から2cmの範囲の厚さに調製することができる。上記物理的架橋の後には、随意に化学的架橋を行うことができ、例えば上記アジド方法を使用することができる。

【0048】比較例1並びに実施例2及び3に記載した技術により調製したゲルから得られたスポンジは、処理をしないで得られた上記スポンジよりも臭気のレベルが大きく減少し、オゾンを使用した場合に最も効果的に脱臭された。更に、後者のオゾンによる脱臭技術により、適度に水気のある又は湿った上記スポンジの機械的特性は、通常の方法で得られる同じ生体材料と比較して、上記物理的又は化学的架橋処理の前であっても、非常に実質的に改善された。

【0049】本発明の実施例2に記載した条件下にオゾンで処理をしたゲルを用いて調製した上記スポンジは、熱安定性が向上していたことも特筆すべきである。実

際、セタラム（SETARAM）装置を使用して得られた、同じスポンジのコラーゲンの変性ピークにより、もし変性開始時の温度に変化がなければ、上記ピークの最高点における温度は約3 $^{\circ}$ C上昇し、変性終了時の温度は約14 $^{\circ}$ C上昇することがわかった。この結果から、上記オゾン処理によって、実施例2に記載した条件下で上記コラーゲンの驚くほどの架橋が生ずることが示された。

【0050】実施例7

コラーゲンの膜又はフィルムの調製

実施例2及び3で得られたコラーゲンゲルは、所望の厚さの層となるようにトレーに入れた後に空中又は空気若しくは窒素等の気体流体中で乾燥することにより、コラーゲンの膜又はフィルムの形態で調製することができた。上記スポンジの場合のように、その機械的特性は熱脱水により向上したが、その後に任意に化学的架橋をしてもよい。このコラーゲンの膜又はフィルムは、予想される適用に従い、約10から100 μ mの様々な厚さで得ることができる。この生体材料の貴重な適用の例は、火傷若しくは怪我を覆うこと、又は、上記フィルムの表面に固定化することにより酵素を安定化することである。

【0051】上記スポンジを使用した場合のように、実施例2及び3に記載したオゾンによる脱臭処理の後に得られた上記フィルムからは、上記魚の匂いが非常に大きく除去されており、これは上記物理的架橋処理又は化学的架橋処理の前においても同様であった。この形態の生体材料は、上記スポンジの場合のように、適度に水気のある又は湿った上記フィルムの機械的特性が、上記オゾン処理により大きく改善された。

【0052】実施例8

コラーゲンスポンジからのコラーゲンマスクの調製

化学的架橋ではなく熱脱水により架橋された又は架橋されていない実施例2で得られたコラーゲンスポンジは、コラーゲンプラーク（plaques）とも称されるが、裂いて3から4mmの厚さのペールとすることができた。A4の大きさに切った後、各ペールを150kg/cm²又は150.10⁵MPaの圧力で圧縮し、圧縮後0.2mmの厚さにすることができた。各ペールはそれから各適用のために適切な大きさに切ることができた（目、唇、胸部の外形）。これにより、マスクを構成する製品が得られ、発疱膏パック（blister packs）に載せ、次いで当業者に公知のあらゆる殺菌手段、例えば15kグレイの β 線照射により殺菌することができた。

フロントページの続き

(71)出願人 500226948
32 rue Saint Jean-de
-Dieu 69007 LYON, FRA
NCE

(72)発明者 ナビル・アブデュル・マラク
フランス国 69300 カリュイール 27,
リュ フレデリック ミストラル
(72)発明者 ウック・アラン
フランス国 69110 セント フォアーレ
ーリヨン 26, シュマン デ サントン